

EFECTO DE ALTOS NIVELES DE HIERRO Y MOLIBDENO SOBRE LA NUTRICIÓN DEL COBRE EN VACAS MESTIZAS.

High Levels of Dietary Iron and Molybdenum on Copper Nutrition in Cross Bred Cows.

Livia Pinto-Santini¹, Susmira Godoy², Claudio Chicco² y Tony Chacón³

¹Facultad de Agronomía (FAGRO-UCV). ²Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP-INIA); Facultad de Veterinaria (FCV-UCV). E-mail: vare@lycos.com.

³Universidad Central de Venezuela. Maracay.

RESUMEN

Para estudiar el efecto de altos niveles de hierro (Fe) y molibdeno (Mo) sobre la nutrición del cobre (Cu), 20 vacas vacías, mestizas *Bos taurus* x *Bos indicus*, de 394 kg PV y de más de dos partos, fueron distribuidas según un diseño completamente aleatorizado en los siguientes tratamientos: (1) Testigo (T): 10 ppm Cu; (2) Mo: 10 ppm Cu y 20 ppm Mo; (3) Fe: 10 ppm Cu y 1000 ppm Fe; (4) MoFe: 10 ppm Cu y 1000 ppm Fe y 20 ppm Mo. Las vacas fueron alimentadas *ad libitum* con pasto de corte (*Panicum maximum* y *Andropogon gayanus*), 1,5 kg de alimento por animal día⁻¹ (harina de maíz: 95%; urea: 5%) que contenía los minerales en las proporciones indicadas. Se tomaron muestras de suero sanguíneo para determinar Cu, Fe y la actividad de la ceruloplasmina. A través de biopsias, se tomaron muestras del tejido hepático cada 28 días, durante 192 días, para determinar la concentración de Cu, Fe y Mo. El consumo de pasto estuvo alrededor de 10 kg MS/animal día⁻¹. El peso vivo no presentó diferencias entre tratamientos con valores de 385; 353; 396 y 382, kg para T, Mo, Fe, MoFe, respectivamente. La concentración de Cu sérico ($\mu\text{g ml}^{-1}$) fue de 0,81; 0,67; 0,50 y 0,71, respectivamente para el mismo orden de los tratamientos, siendo Fe el más bajo ($P < 0,05$). Para el Fe sérico, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), con valores de 1,49; 1,67; 2,08 y 1,93 $\mu\text{g ml}^{-1}$, para el testigo, Mo, Fe y MoFe, respectivamente. Los valores de Cp (absorbancia) fueron 0,093; 0,085; 0,084 y 0,087, para el testigo, Mo, Fe y MoFe, respectivamente, sin diferencias significativas entre tratamientos. Los niveles de Cu hepático fueron diferentes ($P < 0,01$) entre tratamientos, con valores más altos (mg kgMS^{-1}) para T (71,9) y más bajos para Mo (26,6), Fe (30,8) y MoFe (31,4). La concentración de Fe en el hígado registró valores (mg kgMS^{-1}) de 559,0; 513,3; 559,8 y 797,3

para T, Mo, Fe y MoFe, respectivamente, sin diferencias significativas. La acumulación de Mo en el hígado (mg kgMS^{-1}), fue mayor ($P < 0,01$) en los tratamientos Mo (19,9) y MoFe (15,8), con relación a T (1,7) y los suplementados con Fe (1,9). Los resultados indican que los altos niveles de Mo y/o Fe provocaron una disminución de la concentración de Cu en el tejido hepático, por debajo de los niveles críticos y un mayor contenido de Mo y Fe en el hígado. Sin embargo, la reducción de las reservas de Cu no estuvo acompañada por manifestaciones clínicas evidentes de deficiencias del elemento. Se requieren deficiencias más severas, con niveles de Cu hepático más bajos, para que la actividad de la ceruloplasmina, la concentración de cobre sérico y otras alteraciones bioquímicas, como síntesis de melanina, sean afectadas.

Palabras clave: Cobre, hierro, molibdeno, rumiante, antagonismo, ceruloplasmina.

ABSTRACT

To evaluate the effect of high levels of iron (Fe) and molybdenum (Mo) on copper (Cu) nutrition, 20 dry cross bred cows, *Bos Taurus* x *Bos indicus*, of 394 kg BW, with no less than two calving, were assigned to the following treatments: (1) Control (C); 10 ppm Cu(2); Mo 10 ppm + 20ppm Cu (Mo); (3) 10ppm Cu+ 1000 ppm Fe (Fe); and (4) 10 ppmCu+ 1000 ppm Fe+ 20 ppm Mo (MoFe). Cows were fed chopped forage *ad libitum* (*Panicum maximum* and *Andropogon gayanus*) and 1.5 kg concentrate feed (corn meal, 95% and urea, 5%) containing minerals in the proportions as previously indicated. Serum samples were taken every 28 days for Cu, Fe and ceruloplasmine (Cp) activity. Liver sample, via biopsy, at the same time intervals, were also taken to measure Cu, Fe and Mo concentrations. The experiment lasted 192 days. Body weights were not affected by treatments: 385; 353; 396 and 382 kg, respectively for T, Cu, Fe, and MoFe. Copper serum concentration

values ($\mu\text{g ml}^{-1}$) were 0.81, 0.67, 0.50 and 0.71, respectively for the same order, being Fe the lowest ($P < 0.05$). Ceruloplasmine absorbancy values were not different among treatments. Liver copper concentration values were significantly different ($P < 0.05$) among treatments, with higher value (mg KgMS^{-1}) for T (71.9) and lower for Mo (26.6), Fe (30.8) and MoFe (31.4). Liver iron concentration (mg kgMS^{-1}) values were not different among treatments, with values of 559.0, 513.3, 559.8, and 797.3 respectively for C, Mo, Fe and MoFe. Liver Mo take up (mg kgMS^{-1}) was greater ($P < 0.01$) for Mo treatment (19.9) and MoFe (15.8) in relation to T (1.7) and Fe (1.9). Results indicate that high levels of Mo and Fe decreased liver copper, below critical levels. However, the reduction of liver copper was not associated with clinical sign of copper deficiency. Probably lower levels of liver copper are required to show changes in ceruloplasmine and blood serum concentrations as well as other biochemical changes at tissue level.

Key words: Copper, iron, molybdenum, ruminants, antagonism, ceruloplasmine.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción con bovinos de carne a pastoreo en el trópico americano se ubican principalmente en sabanas de suelos ácidos bien y mal drenados. En estas sabanas, la producción de biomasa vegetal es afectada por factores edafoclimáticos, como baja fertilidad de los suelos y estacionalidad de la precipitación pluvial. Consecuentemente, la oferta forrajera es generalmente de pobre calidad nutritiva, con deficiencias energético-proteicas y desbalances minerales, y de disponibilidad estacional, lo que limita la producción de los rebaños.

En Venezuela, la mayoría de las áreas de pastoreo tienen marcadas deficiencias de fósforo y sodio, localizadas de zinc, cobre y cobalto y altos niveles de hierro y manganeso [8]. En el caso de las sabanas inundables se han detectado excesos de molibdeno y azufre [7]. Sin embargo, en el país hay pocos estudios sobre el contenido mineral de suelos y forrajes y su correspondencia con parámetros bioquímicos y productivos en animales a pastoreo [9]. Esto es particularmente cierto en el caso de las interrelaciones minerales, específicamente las que involucran el Fe, Mo, S y Cu. Las deficiencias de cobre, primarias o inducidas por exceso de otros minerales (Fe y Mo), han provocado pérdidas importantes en la ganadería, bajo condiciones de pastoreo en varios países en el mundo. El Cu es importante para una gran cantidad de procesos fisiológicos dentro de los que destacan el crecimiento y la reproducción.

Por lo tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo estudiar en vacas mestizas *Bos taurus* x *Bos indicus*, mantenidas en condiciones de sabanas de suelos ácidos y pobres en nutrientes, el efecto de la interrelación Cu-Mo-Fe sobre algunas variables bioquímicas relacionadas con éstos elementos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 20 vacas mestizas *Bos taurus* x *Bos indicus* vacías, de dos o más partos, seleccionadas por peso y grupo racial. Las vacas provenían del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas en el estado Guárico (INIA-Guárico) donde eran mantenidas a pastoreo en sabanas naturales, deficientes en cobre (< 8 ppm) y con excesos de hierro (> 1500 ppm) en las pasturas. La experimentación tuvo una duración de 168 días (d).

En un diseño de experimento completamente aleatorizado, 20 vacas (cinco por tratamiento) fueron asignadas a cuatro tratamientos experimentales (T: 10ppm Cu, Mo: 10ppm Cu y 20ppm Mo, Fe: 10ppm Cu y 1000ppm Fe y Mofe: 10ppm Cu, 20ppm Mo y 1000ppm Fe).

Las vacas fueron alojadas en corrales con dos y tres animales cada uno (dos corrales por tratamiento) y fueron alimentadas *ad libitum* con pasto de corte (*Panicum maximum* y *Andropogon gayanus*), con suministro de 1,5 kg de alimento concentrado por animal día. El alimento estaba constituido por harina de maíz (95%) y urea (5%) (TABLA I) y, suplementados con una mezcla mineral base a razón de 50 g por animal día⁻¹. El suplemento mineral fue balanceado para cubrir el 20% de los requerimientos de Ca, P y Cu, el 15% de los requerimientos de azufre y el 50% de los requerimientos de Co e I y el total de los requerimientos de Se (TABLA II). Adicionalmente, el suplemento fue complementado con Fe (sulfato ferroso) y Mo (molibdato de sodio), para suministrar los niveles establecidos en los tratamientos experimentales, Mo, 0,42 g de molibdato de sodio, Fe, 22g de sulfato ferroso y Mofe, 0,42 g de molibdato de sodio y 22 g de sulfato ferroso, considerando, en el caso del Fe, el aporte proveniente del forraje (177,5 ppm).

Al inicio del experimento todos los animales fueron desparasitados contra endo y ectoparásitos a través de la aplicación intramuscular de 1 ml de ivermectina por cada 50 kg de peso vivo.

Variables productivas

Las vacas fueron pesadas en forma individual al inicio del ensayo y luego cada 28 días, para determinar los cambios en el peso vivo, previo ayuno de 18 horas.

El consumo de pasto se determinó semanalmente, por corral, a través de la diferencia en peso (kg) entre las cantidades ofrecidas y las rechazadas. Se tomaron muestras del pasto ofrecido y el rechazado para análisis bromatológico y mineral [1].

Concentración de hierro, cobre y ceruloplasmina (Cp) en suero sanguíneo

A todos los animales se les tomó muestras de sangre (7 ml), a nivel de la vena yugular, al inicio de la experiencia y luego con intervalos de 28 días. Se determinó cobre y hierro en suero por espectrofotometría de absorción atómica (AOAC, 1984) [1,11].

TABLA I
COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL FORRAJE Y ALIMENTO
CONCENTRADO / CHEMICAL COMPOSITION OF FORAGE
AND SUPPLEMENT

	Forraje ¹	Maíz (95): urea (5)
Número de muestras	24	2
Materia seca (%)	72,2 ± 1,9	
Proteína cruda (%)	5,4 ± 2,0	24
Extracto etéreo (%)	1,7 ± 0,5	
FDN (%)	76,4	
Cenizas totales (%)	9,5 ± 1,8	
Ca (%)	0,35 ± 0,17	0,03
P (%)	0,25 ± 0,13	0,27
S %	0,11 ± 0,02	0,12
Mg %	0,29 ± 0,12	
K %	1,27 ± 0,68	
Na (%)	0,10 ± 0,02	0,03
Cu (ppm)	13,6 ± 8,9	3,8
Mo (ppm)	Trazas - 0,02	ND
Fe (ppm)	177,5 ± 76,6	29
Mn (ppm)	45,7 ± 30,5	
Zn (ppm)	28,2 ± 14,5	
Co (ppm)	ND	
I (ppm)	ND	
Se (ppm)	ND	

1: *Panicum maximun* y *Andropogon gayanus*. ND: No determinado.

La actividad de Cp fue determinada empleando la metodología de Houchin [14]. Los valores de Cp fueron expresados en términos de densidad óptica, unidades de absorbancia, a 540 nm. La absorbancia fue leída en un espectrofotómetro.

Determinaciones de cobre, hierro y molibdeno en tejido hepático

Para la determinación de la concentración mineral en hígado se tomaron muestras del tejido mediante biopsias hepáticas al inicio y luego cada 28 días a todas las vacas. Previa desinfección del área con etanol (90%), las muestras hepáticas fueron obtenidas a través de una incisión en el espacio intercostal, entre la 11va. y 12va. costilla. La muestra de hígado fue tomada con un trócar de 25 cm de largo y 0,5 cm de diámetro y fue colocada en papel de filtro para remover la sangre [11], y luego refrigerada en el laboratorio a 0°C. La concentración de Cu y Fe fue determinada a través de espectrofotometría de absorción atómica y la concentración de Mo se determinó por espectrofotometría de emisión atómica de plasma [1].

TABLA II
COMPOSICIÓN QUÍMICA Y APOORTE DE NUTRIENTES
DEL SUPLEMENTO MINERAL BASE (50g ANIMAL DÍA⁻¹) /
CHEMICAL COMPOSITION AND MINERAL NUTRIENTS
(50g ANIMAL DAY⁻¹)

Materia prima	Porcentaje	Aporte (por c/100 g suplemento)
Carbonato de calcio ¹	17,6	Ca: 6,7 g
Fosfato monodicalcico ²	40,5	Ca: 6,5 g P: 8,5 g
Azufre ³	4,1	S: 4,1 g
Sulfato de zinc ⁴	0,7	Zn: 255 mg
Sulfato de cobre ⁵	0,12	Cu: 42,5 mg
Carbonato de cobalto ⁶	0,04	Co: 1,7 mg
Yodato de potasio ⁷	0,012	I: 8,5 mg
Selenito de sodio ⁸	0,008	Se: 3,4 mg
Sal común ⁹	36,9	
Total	100	

1: carbonato de calcio (CaCO₃; 38% de Ca) y fosfato mono-dicálcico (Ca(H₂PO₄)₂; 16% de Ca); 2: fosfato mono-dicálcico (21% de P); 3: azufre elemental (S); 4: sulfato de zinc (ZnSO₄H₂O; 36% de Zn); 5: sulfato de cobre (CuSO₄H₂O; 35% de Cu); 6: carbonato de cobalto (CoCO₃; 50% de Co); 7: yodato de potasio (KI; 70% de I); 8: selenito de sodio (Na₂SeO₃; 45% de Se); 9: No determinado.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó con la metodología de análisis de varianza para medidas longitudinales usando el procedimiento MIXED de SAS [22]. Mediante la técnica de Littell y col. [17], se seleccionó una estructura apropiada de covarianza. Las medias fueron estimadas por mínimos cuadrados y su comparación se realizó a través de la Prueba de Tukey [23]. El peso inicial de las vacas fue utilizado como covariable para la determinación de los cambios de peso vivo. También se incluyeron análisis de correlación entre las variables sanguíneas y hepáticas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables productivas

El consumo de forraje promedio (kgMS por animal día⁻¹) fue de 10,7; 10,0; 10,7 y 10,0, para los grupos T, Mo, Fe y MoFe, respectivamente, sin diferencias significativas (TABLA III). En todos los tratamientos se observó un menor consumo de pasto a medida que avanzó el período de experimentación, con valores inferiores a 10 kgMS por animal día⁻¹, a partir del día 112. Con relación al peso vivo (%), el consumo de forraje fue de 2,7 para el testigo, 2,8 para Mo, 2,7 para Fe y 2,6 para MoFe, valores considerados adecuados en vacunos que consumen pasturas de mediana a baja calidad.

TABLA III
CONSUMO DE PASTO Y PESO VIVO EN VACAS MESTIZAS SUPLEMENTADAS CON Fe Y Mo/
FORAGE INTAKE AND BODY WEIGHT IN COWS SUPPLEMENTED WITH Fe AND Mo

	Testigo	Mo	Fe	MoFe	EE ¹
Semana Exp.	Consumo pasto (kg MS por animal día ⁻¹)				
0	10,6	10,2	11,5	10,5	1,0
28	10,9	8,5	10,2	10,7	0,9
56	11,0	10,5	10,5	10,6	0,8
84	10,6	9,8	9,9	9,9	0,9
112	9,8	8,9	9,0	9,0	1,1
140	9,7	8,9	9,0	9,0	1,1
168	9,7	8,9	9,0	9,0	1,1
Media por tratamiento NS ²	10,7	10,0	10,7	10,0	2,0
Día de exp.	Peso vivo (kg animal ⁻¹)				
0	397,7	374,0	402,8	393,0	14,5
28	396,7	357,0	401,5	381,7	19,0
56	396,7	350,0	404,3	385,0	16,2
84	402,7	364,7	408,5	395,3	16,8
112	385,0	347,6	396,3	391,7	12,5
140	367,7	336,7	380,0	373,3	13,5
168	354,0	342,2	380,6	355,5	14,0
Media por tratamiento NS ²	385,8	353,2	396,3	382,2	15,2
Diferencia Peso inicial-Peso final	43,7	31,8	22,2	37,5	

1: error estandar. 2: NS= no significativo.

El peso inicial promedio (kg) de los animales fue de 397,7; 374,0; 402,8 y 393,0 para T, Mo, Fe y MoFe, respectivamente, sin diferencias entre grupos ($P > 0,05$). Los animales perdieron peso corporal (g animal día⁻¹) con valores de -260,1 para T, -189,3 para Mo, -132,1 para Fe y -223,2 para MoFe (TABLA III), sin diferencias entre tratamientos. Se ha reportado pobre crecimiento en animales que pastorean en zonas con deficiencias de cobre [24]. Más recientemente [5, 12, 15, 20] se conoce que las reducciones en las ganancias de peso ocurren, principalmente, cuando la deficiencia de Cu es producida por excesos de Mo en la dieta y son atribuidas al menor consumo de alimentos que provoca esta condición. Con respecto a los excesos de Fe, Prabowo y col. [21], señalan que, en ovinos, la suplementación con niveles de 1200 mg kgMS⁻¹ de Fe en la dieta no afecta el consumo, la ganancia de peso y la conversión de alimentos.

Concentración de cobre, hierro y actividad de ceruloplasmina en suero

La concentración de Cu sérico fue similar entre tratamientos. Los valores promedios ($\mu\text{g mL}^{-1}$) para los tratamientos fueron 0,81 para T; 0,67 para Mo; 0,50 para Fe y 0,71 para MoFe, y con una tendencia ($P = 0,10$) descendente para el grupo Fe (TABLA IV).

En todos los tratamientos se observó reducciones significativas ($P < 0,01$) en los niveles de Cu a partir del día 56, con valores menores a $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, los cuales aumentaron a partir del día 140 de experimentación (TABLA IV). Las reducciones iniciales en la concentración de Cu sérico pudieron deberse a la presencia de antagonistas del Cu en el forraje. El azufre pudiera formar complejos insolubles con el Cu. Adicionalmente, el contenido de Fe de 177 mg kgMS^{-1} en el pasto, pudo afectar la absorción y/o retención del Cu tal como lo señala Bremner y col. [5]. Trabajos recientes sugieren que la concentración de Mo, en niveles tan bajos como $0,5 \text{ mg kgMS}^{-1}$ en la dieta, pueden reducir significativamente la absorción de Cu [16].

La suplementación con Mo modifica la distribución de Cu en plasma. Así, Mason y col. [18] y Gooneratne y col. [13] señalan que, la administración de Mo (como tiomolibdato intraduodenal y/o intravenoso) incrementa los niveles de Cu insoluble en ácido tricloroacético (TCA) en el plasma, como producto de la movilización hepática, por lo que, no es disponible para el metabolismo. Xin y col. [28], reportan valores de Cu de 0,65 y de $1,05 \mu\text{g mL}^{-1}$, a las 16 y 32 semanas de suplementación con Mo (5 mg kgMS^{-1}). Estos autores atribuyen el aumento de los niveles de Cu a la formación del complejo de Cu insoluble en TCA, que puede representar hasta el 25% del total de Cu en plasma, según lo señalado por Wittenberg y Devlin [27]. A

TABLA IV
CONCENTRACIÓN DE COBRE Y DE HIERRO SÉRICO EN VACAS MESTIZAS SUPLEMENTADAS CON Fe Y Mo /
SERUM CU AND FE CONCENTRATION IN COWS SUPPLEMENTED WITH Fe AND Mo

	Testigo	Mo	Fe	MoFe	EE ²
Día de exp. ¹	Cobre sérico ($\mu\text{g ml}^{-1}$)				
0	1,29	1,17	0,72	1,17	0,11
28	0,78	0,74	0,89	0,65	0,07
56	0,40	0,53	0,39	0,45	0,02
84	0,50	0,59	0,44	0,40	0,03
112	0,51	0,66	0,41	0,66	0,03
140	0,95	0,44	0,35	0,71	0,06
168	1,22	0,58	0,32	0,86	0,13
Medias tratamiento NS	0,81	0,67	0,50	0,71	0,08
Día de exp. ¹	Hierro sérico ($\mu\text{g ml}^{-1}$)				
0	1,36	2,11	2,21	2,23	0,18
28	1,57	1,20	1,90	1,99	0,18
56	1,46	1,51	1,61	1,37	0,18
84	1,21	1,37	1,29	0,90	0,18
112	1,82	1,38	1,99	1,82	0,19
140	1,59	2,74	3,97	3,63	0,22
168	1,38	1,37	1,62	1,55	0,21
Medias tratamiento (P<0,05)	1,49 ^c	1,67 ^{bc}	2,08 ^a	1,93 ^{ab}	0,13

1: efecto tiempo (P<0,01). 2: error estándar. Números con letras distintas dentro de fila son diferentes (P<0,05).

pesar de que no hubo diferencias entre tratamientos, aquellos que incluían Mo (Mo y MoFe) presentaron valores superiores de Cu en suero en comparación con el grupo suplementado sólo con Fe. Se conoce que la formación de la fracción de Cu insoluble en TCA, que contiene Mo, es dependiente del S dietario [24].

Contrariamente, Phillippo y col. [20], reportan niveles de Cu en plasma comprendido entre valores de 0,99 a 0,20 $\mu\text{g ml}^{-1}$ y de 0,96 a 0,27 $\mu\text{g ml}^{-1}$, en los grupos suplementados con Mo y con Fe para los días cero y 112, respectivamente y, bajos niveles (0,12 y 0,17 $\mu\text{g ml}^{-1}$), a los 224 d. Similares respuestas a la incorporación de Mo y Fe fueron reportadas por Humphries y col. [15] y Gengelbach y col. [12], en becerros en crecimiento y por Prabowo y col. [21], en ovinos en crecimiento.

Du y col. [10], señalan que en vacas lactantes pueden presentarse niveles superiores a 0,80 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de Cu en plasma, con concentraciones hepáticas inferiores a los 30 mg kg MS⁻¹. La relación entre la concentración de Cu hepático y la concentración en suero de vacas en mantenimiento no fue significativa ($r = 0,36$; $P > 0,05$), en comparación con los resultados presentados para animales en crecimiento [5, 15, 20, 28].

Para el Fe sérico se observaron diferencias entre tratamientos (P<0,05), con valores superiores ($\mu\text{g ml}^{-1}$) en los grupos Fe (2,08) y MoFe (1,93) y menores para T (1,49) y Mo (1,67), según se muestra en la TABLA IV.

A pesar de la mayor concentración de Fe sérico en los grupos de Fe y MoFe, todos los tratamientos presentaron valores normales para rumiantes [24] (TABLA IV). Phillippo y col. [20] señalan valores similares de Fe en plasma en los grupos con y sin suplementación con Fe (2,0 y 2,5 $\mu\text{g ml}^{-1}$), pero indican que la incorporación de Mo los reduce a valores de 1,3 a 1,7 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Bremner y col. [5], no reportan aumentos significativos en la concentración de Fe plasmáticos debido a la suplementación con niveles de 500 mg kgMS⁻¹ de Fe en becerros en crecimiento. En corderos, los altos niveles de Fe en la dieta (1200 mg kgMS⁻¹) no causan aumentos en la concentración de Fe sérico ni cambios en el porcentaje de saturación de transferrina, luego de 114 d de suplementación [21].

La actividad de Cp no presentó diferencias (P>0,05) para tratamiento y la interacción tratamiento x día (TABLA V). Los valores promedios de Cp (absorbancia) fueron de 0,093; 0,085; 0,084 y 0,087; para los grupos T, Mo, Fe y MoFe, respectivamente y, son similares a los reportados en la literatura, para valores de Cu hepáticos cercanos a 30 mgkgMS⁻¹ [6, 15, 25]. Entre días, las diferencias fueron significativas (P<0,01), con valores más altos de Cp en suero (0,100) al final de la experiencia. Posibles adaptaciones fisiológicas en el metabolismo y absorción del Cu en condiciones de alto consumo de Fe en la dieta, pudieran explicar el aumento de los niveles de Cp.

TABLA V
ACTIVIDAD DE LA CERULOPLASMINA (ABSORBANCIA)¹ EN VACAS MESTIZAS SUPLEMENTADAS CON Fe Y Mo /
CERULOPLASMIN ACTIVITY (ABSORBS¹) IN COWS SUPPLEMENTED WITH Fe AND Mo

Día de exp. ²	Testigo	Mo	Fe	MoFe	EE ³
0	0,078	0,072	0,074	0,082	0,003
28	0,081	0,070	0,071	0,067	0,003
56	0,097	0,094	0,091	0,099	0,003
84	0,095	0,084	0,086	0,089	0,003
112	0,098	0,089	0,100	0,101	0,003
140	0,091	0,089	0,074	0,078	0,003
168	0,111	0,099	0,088	0,095	0,004
Media tratamiento NS	0,093	0,085	0,084	0,087	0,004

1: medida en absorbancia a 540 nm. 2: efecto tiempo (P <0,01). 3: error estándar.

Concentración de cobre, hierro y molibdeno en hígado

Los niveles de Cu hepático presentaron diferencias significativas (P<0,01) entre tratamientos (TABLA VI) y entre períodos (TABLA VII), con valores promedio superiores, aún cuando similares biológicamente a los demás tratamientos, (mg kgMS⁻¹) para el grupo T (71,9) y más bajos para los grupos Mo (26,6), Fe (30,8) y MoFe (31,4). Las reservas de Cu en hígado declinaron rápidamente en los tratamientos Mo y MoFe. A los 28 d, la concentración de Cu en hígado disminuyó en 62% en el tratamiento MoFe y en 57%, en el tratamiento Mo, llegando a niveles de 30 mg kgMS⁻¹. La concentración final de Cu hepático (mg kgMS⁻¹), a los 112 d, fue de 16,6 y 18,4, para Mo y MoFe y, más baja para Fe (11,6). La tasa de reducción de las reservas de Cu está positivamente correlacionada con la concentración hepática, lo que confirmaría un eficiente control homeostático del Cu en rumiantes [25].

No se observaron evidencias de sinergismos entre el Fe y el Mo (MoFe) relativas a la reducción del estatus de Cu en las vacas. Humphries y col. [15], tampoco encontraron efectos sinérgicos entre estos dos minerales en el metabolismo del Cu.

En presencia de Fe y Mo, sin suplementación de Cu, los niveles en hígado disminuyen rápidamente hasta un punto en el que se mantienen constantes, tanto en vacunos [4, 25, 26], como en ovinos [21]. En investigaciones similares, pero con tiempos de medición más prolongados (más de 32 semanas), se reportan valores de Cu en hígado inferiores a 10 mg kgMS⁻¹, nivel en el cual se afectaron algunas cupro-enzimas vitales para el normal funcionamiento hepático [24].

En todos los tratamientos, correspondientes a los animales suplementados, al igual que la concentración de Cu sérico, disminuyó el nivel de Cu hepático al inicio del experimento (TABLA VI), lo que pudo deberse a la presencia de antagonistas del Cu en el forraje, como fue señalado anteriormente.

La relación entre Cu hepático y actividad de Cp fue negativa (r=-0,32; P<0,05). Cuando las reservas de Cu en hígado son inferiores a 20 mg kgMS⁻¹, se compromete la movilización

de Cu para mantener los niveles adecuados de Cp [6, 12, 15, 25, 26]. Sin embargo, Arthington y col. [3] y Du y col. [10] señalan que cuando las concentraciones hepáticas de Cu se encuentran por debajo de 30 mg kgMS⁻¹, se reduce la actividad de Cp y superóxido dismutasa.

La concentración de Fe hepático presentó valores (mg kgMS⁻¹) de 559,0; 513,3 y 559,8 para los grupos T, Mo y Fe, respectivamente, sin diferencias estadísticas entre tratamientos. Sin embargo, el grupo MoFe (797,3 ppm) tendió a presentar concentraciones superiores (P=0,09) al resto de los tratamientos, lo que pudiera deberse a un sinergismo del Mo y del Fe, que favorece la acumulación de este último en el hígado. La suplementación con Mo, como consecuencia de la disminución de las reservas de Cu, puede incrementar en forma significativa la concentración de Fe hepático [20].

Sin embargo, se presentaron altos niveles de Fe hepático (>500 mg kgMS⁻¹) al inicio del experimento en todos los tratamientos correspondientes a los animales suplementados (TABLAS VI y VII), comparado con otros experimentos realizados en condiciones de clima templado y con animales *B. taurus*, en los que los valores de hierro en hígado no excedieron 350 mg kgMS⁻¹ [5, 20] y que pudieron influir en el metabolismo del Cu.

Los altos consumos de Fe en formas inorgánicas (carbonato ferroso, sulfato ferroso o citrato férrico), provocan la acumulación de Fe en el hígado y bazo en los rumiantes [2, 21] y, en ratas [19] debido a la elevada disponibilidad del Fe de estas fuentes. En el caso de las sabanas y llanos venezolanos, los altos niveles de Fe presentes en los forrajes pudieran provocar incrementos en la concentración de Fe hepático de los animales [10].

La acumulación de Mo promedio en el hígado (mg kgMS⁻¹), fue mayor (P<0,01) en los tratamientos Mo (19,9) y MoFe (15,8), con relación a T (1,7) y los suplementados con Fe (1,9) (TABLA VI). La concentración final de Mo hepático (mg kgMS⁻¹) fue 45,7 para el Mo y 38 para MoFe. Los grupos T y Fe, presentaron concentraciones finales de Mo, consideradas normales 4,7 y 3,5 mg kgMS⁻¹, respectivamente. Los valo-

TABLA VI
CONCENTRACIÓN HEPÁTICA DE COBRE, HIERRO Y MOLIBDENO EN VACAS MESTIZAS SUPLEMENTADAS CON Fe Y Mo
/ LIVER CONCENTRATION OF Cu, Fe AND Mo IN COWS SUPPLEMENTED WITH Fe AND Mo

Día de exp. ¹	Testigo	Mo	Fe	MoFe	EE ²
Cobre hepático (mg kg ⁻¹)					
0	130,3	71,2	79,4	70,2	1,3
28	56,2	30,8	49,7	26,8	1,3
56	50,7	24,0	37,7	33,4	1,3
84	53,6	15,1	16,1	26,5	1,6
112	96,5	16,6	11,6	18,4	1,3
Medias tratamiento (P<0,01)	71,9 ^a	26,6 ^b	30,8 ^b	31,4 ^b	1,2
Hierro hepático (mg kg ⁻¹)					
0	615,5	604,9	551,1	584,9	1,1
28	600,6	696,2	642,8	785,6	1,1
56	579,2	513,1	665,7	1065,9	1,0
84	375,1	321,8	392,6	866,4	1,1
112	679,8	512,5	593,5	758,9	1,0
Medias tratamiento (NS)	559,0	513,3	559,8	797,3	1,2
Molibdeno hepático (mg kg ⁻¹)					
0	1,3	3,9	0,4	3,5	0,1
28	0,9	15,1	1,4	12,0	0,1
56	1,0	36,3	3,6	21,9	0,1
84	2,7	32,5	3,7	28,5	0,2
112	4,7	45,7	3,5	38,0	0,1
Medias tratamiento (P<0,01)	1,7 ^b	19,9 ^a	1,9 ^b	15,8 ^a	0,2

1: efecto tiempo (P<0,01). 2: error estandar. Números con letras distintas dentro de fila son diferentes (P <0,05).

TABLA VII
CONCENTRACIÓN DE COBRE, HIERRO Y MOLIBDENO EN HÍGADO EN LOS PERIODOS EVALUADOS¹
LIVER CONCENTRATION OF Cu, Fe AND Mo IN THE PERIOD EVALUATED¹

Día de exp	Concentración hepática (mg kgMS ⁻¹)					
	Cobre	EE	Hierro	EE	Molibdeno	EE ²
0	84,8 ^a	1,2	588,6 ^a	1,2	1,7 ^b	0,2
28	39,0 ^b	1,2	677,8 ^a	1,2	3,9 ^b	0,2
56	35,2 ^b	1,2	677,6 ^a	1,2	7,4 ^a	0,2
84	24,2 ^b	1,2	450,1 ^b	1,2	9,8 ^a	0,2
112	24,2 ^b	1,2	629,4 ^a	1,2	13,0 ^a	0,2

1: efecto tiempo. 2: error estandar. Números con letras distintas dentro de columna son diferentes (P<0,01).

res de la concentración de Mo hepático, producto de la suplementación con Mo, fueron similares a los presentados por Xin y col. [28], para hembras en crecimiento (TABLA VII) y en general son considerados altos. La acumulación hepática de Mo, tal como lo reportaron Arthington y col. [3], redujo la concentración de Cu en hígado ($r = -0,39$; $P < 0,05$).

CONCLUSIONES

Los resultados indican que los altos niveles de Mo y/o Fe provocaron una disminución de la concentración de Cu en el tejido hepático, por debajo de los niveles críticos, sin afectar la concentración sérica de Cu, mientras que el contenido de Mo y Fe fue mayor.

Los altos niveles de Fe ingeridos con el suplemento mineral (Fe y MoFe), en la forma de sulfato ferroso, de alta disponibilidad, provocaron aumentos del Fe a nivel sérico.

La reducción de las reservas de Cu no estuvo acompañada por manifestaciones clínicas evidentes de deficiencias del elemento. Se requieren deficiencias más severas, con niveles de Cu hepático más bajos, para que la actividad de la ceruloplasmina, la concentración de cobre sérico y alteraciones bioquímicas, relacionadas con las metaloenzimas dependientes de cobre, sean afectadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis. 14th Ed. Washington, DC. 190pp. 1984.
- [2] AMMERMAN, C.B.; MILLER, S.M. Biological availability of minor mineral ions: A review. **J. Anim. Sci.** 35: 681-687. 1972.
- [3] ARTHINGTON, J.D.; CORAH, L.R.; BLECHA, F. The effect of molybdenum-induced copper deficiency on acute-phase protein concentrations, superoxide dismutase activity, leukocyte numbers, and lymphocyte proliferation in beef heifers inoculated with Bovine Herpesvirus-1. **J. Anim. Sci.** 74: 2759-2764. 1996.
- [4] BAILEY, J.D.; ANSOTEGUI, R.P.; PATERSON, J.A.; SWENSON, C.K; JONSON, A.B. Effects of supplementing combinations of inorganic and complexed copper on performance and liver mineral status of beef heifers consuming antagonists. **J. Anim. Sci.** 79:2926-2934. 2001.
- [5] BREMNER, I.; HUMPHRIES, W.R.; PHILLIPPO, M.; WALKER, M.J.; MORRICE, P.C. Iron-induced copper deficiency in calves: dose-response relationships and interactions with molybdenum and sulfur. **Anim. Prod.** 45: 403-414. 1987.
- [6] CERONE, S.I.; SANSINANE, A.S.; STREITENBERGER, S.A.; GARCÍA, M.C.; AUZA, N.J. Cytochrome C oxidase, Cu-Zn-Superoxide dismutase, and ceruloplasmin activities in copper-deficient bovines, **Nutr. Abst. Rev.** (Series B). 70(11): 909. (Abstr.). 2000.
- [7] CHICCO, C.F.; GODOY, S. Nutrición mineral de los bovinos de carne en Venezuela. **XVIII Cursillo sobre Bovinos de Carne**. En: R. Romero, J. Arango y J. Salomón (Eds.). Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias, Maracay, Venezuela. 135-155pp. 2002.
- [8] CHICCO, C.F.; GODOY, S. Suplementación mineral de bovinos de carne a pastoreo. En: D. Plasse y N. Peña de Borsotti (Eds.). **III Cursillo sobre Bovinos de Carne**. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, 20 de octubre. Venezuela. 47-103pp. 1987.
- [9] CHICCO, C.; FRENCH, M. Observaciones sobre deficiencias de calcio y fósforo en los animales de las regiones ganaderas del centro y este de Venezuela. **Agron. Trop.** 9:41-57. 1959.
- [10] DU, Z.; HEMKEN, R.W.; HARMON, R.J. Copper metabolism of Holstein and Jersey cows and heifers fed diets high in cupric sulfate or copper proteinate. **J. Dairy Sci.** 79: 1873-1880. 1996.
- [11] FICK, K.R.; MILLER, S.M.; FUNK, J.D.; MCDOWELL, L. R.; HOUSER, R.H. Mineral analysis for atomic-absorption spectrophotometric. **Methods of mineral analysis for plant and animal tissues**. Gainesville, Florida, Animal Science Department, University of Florida. 172pp. 1977.
- [12] GENGELBACH, G.P.; WARD, J.D.; SPEARS, J.W. Effect of dietary copper, iron and molybdenum on growth and copper status of beef cows and calves. **J. Anim. Sci.** 72: 2722-2727. 1994.
- [13] GOONERATNE, S.R.; LAARVELD, B.; CHAPLIN, R.K.; CHRISTENSEN, D.A. Profiles of ⁶⁷Cu in blood, bile, urine and faeces from ⁶⁷Cu-primed lambs: effect of ⁹⁹Mo-labelled tetrathiomolybdate on the metabolism of recently stored tissue ⁶⁷Cu. **Br. J. Nutr.** 61:355-371. 1989.
- [14] HOUCHIN, O.B. A rapid colorimetric method for quantitative determination of copper oxidase activity (ceruloplasmin). **Clin. Chem.** 4:519-523. 1958.
- [15] HUMPHRIES, W.R.; PHILLIPPO, M.; YOUNG, B.W.; BREMNER, I. The influence of dietary iron and molybdenum on copper metabolism in calves. **Br. J. Nutr.** 49, 77-86. 1983.
- [16] LEE, J.; MARTERS, D. C.; WHITE, C. L.; GRACE, N. D.; JUDSON, G. J. Current issues in trace element nutrition of grazing livestock in Australia and New Zealand. **Austr. J. of Agr. Sci. Cambridge** .108:591-597. 1999.
- [17] LITTELL, R. C.; HENRY, R. P.; AMMERMAN, C. B. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. **J. Anim. Sci.** 76: 1216-1231. 1998.
- [18] MASON, J.; LAMAND, M.; KELLEHER, C. A. The fate of ⁹⁹Mo-labelled sodium tetrathiomolybdate after duodenal administration in sheep: the effect on caeruloplasmin (EC 1.16.3.1) diamine oxidase activity and plasma Koper. **Br. J. Nutr.** 43: 515-523. 1980.
- [19] MARSTON, H. R.; ALLEN, S. H.; SWABY, S. L. Iron metabolism in copper-deficient rats. **Br. J. Nutr.** 25:15-30. 1971.
- [20] PHILLIPPO, M.; HUMPHRIES, W. R.; GARTHWAITE, P. H. The effect of dietary molybdenum and iron on copper status and growth in cattle. **J. Agric. Sci.** 109:315-320. 1987.
- [21] PRABOWO, A.; SPEARS, J.W.; GOODE, L. Effects of dietary iron on performance and mineral utilization in

- lambs fed a forage-based diet. **J. Anim. Sci.** 66:2028-2035. 1988.
- [22] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. SAS/STAT. User's Guide; Statistics (Release 6.04). 89-130pp. 1996.
- [23] STEEL, R. G. D.; TORRIE, J.H. Comparaciones múltiples. **Bioestadísticas: Principios y procedimientos. Capítulo 8.** 2nd Ed. McGraw-Hill. México, USA. 622pp. 1988.
- [24] UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N. F. Copper. **The Mineral Nutrition of Livestock.** Chapter 11. 3rd. Ed. CAB International, Wallingford, Londres. 283-342pp. 1999.
- [25] WARD, J. D.; SPEARS, J. W. Long-term effects of consumption of low-copper diets with or without supplemental molybdenum on copper status, performance, and carcass characteristics of cattle. **J. Anim. Sci.** 75:3057-3065. 1997.
- [26] WARD, J. D.; SPEARS, J. W.; GENGELBACH, G. P. Differences in copper status and copper metabolism among Angus, Simmental and Charolais cattle. **J. Anim. Sci.** 73:571-577. 1995.
- [27] WITTENBERG, K. M.; DEVLIN, T.J. Effects of dietary molybdenum on productivity and metabolic parameters of lactating beef cows and their offspring. **Can. J. Anim. Sci.** 67:1055-1066. 1987.
- [28] XIN, Z.; WATERMAN, D. F.; HEMKEN, R. W.; HARMON, R. J. Effects of copper status on neutrophil function, superoxide dismutase and copper distribution in steers. **J. Dairy Sci.** 74:3078-308. 1991.